

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



<b>(51) 国際特許分類6</b> C07K 5/075, 1/14, 1/16, A23L 1/236	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> WO99/20648  <b>(43) 国際公開日</b> 1999年4月29日 (29.04.99)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP98/04783 <b>(22) 国際出願日</b> 1998年10月21日 (21.10.98)  <b>(30) 優先権データ</b> 特願平9/290216 1997年10月23日 (23.10.97) JP  <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> 味の素株式会社(AJINOMOTO CO., INC.)(JP/JP) 〒104-0031 東京都中央区京橋1丁目15番1号 Tokyo, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 網野裕右(AMINO, Yusuke)(JP/JP) 竹本 正(TAKEMOTO, Tadashi)(JP/JP) 〒210-0801 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社 中央研究所内 Kanagawa, (JP) <b>(74) 代理人</b> 弁理士 石田康昌, 外(ISHIDA, Yasumasa et al.) 〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3丁目20番12号 望星ビル7階 加藤内外特許事務所 Kanagawa, (JP)		<b>(81) 指定国</b> BR, CA, CN, CZ, HU, KR, MX, RU, SK, US, 欧州特許 (BE, CH, DE, FR, GB, IT, NL).  添付公開書類 国際調査報告書
<b>(54) Title: PROCESS FOR THE PURIFICATION OF ASPARTAME DERIVATIVE</b>  <b>(54) 発明の名称</b> アスパルテーム誘導体の精製方法  <b>(57) Abstract</b> A process for purifying N-[N-(3,3-dimethyl-butyl)-L- $\alpha$ -aspartyl]-L-phenylalanine methyl ester prepared by the reductive alkylation of aspartame (APM) with 3,3-dimethylbutyraldehyde, which comprises subjecting the concentrate of the reaction mixture of the alkylation or the crude crystalline product thereof to extraction with an organic solvent or dissolution in an organic solvent. This process permits the separation and removal of APM used as the starting material which is difficultly separable by mere recrystallization of the crude product, and the separation and removal of N,N-di(3,3-dimethylbutyl)-APM formed as a by-product by purification means such as crystallization, chromatography, extraction and treatment with active carbon, and thereby permits the effective purification of N-[N-(3,3-dimethylbutyl)-L- $\alpha$ -aspartyl]-L-phenylalanine methyl ester useful as a high-sweetness sweetener and the industrial production thereof in a high purity.		

(57)要約

アスパルテーム (APM) と 3, 3 - ジメチルブチルアルデヒドとの還元的アルキル化によって生成する N - [N - (3, 3 - ジメチルブチル) - L -  $\alpha$  - アスパルチル] - L - フェニルアラニンメチルエステルを分離精製するに際して、アルキル化反応液の濃縮液或いは生成物粗結晶から有機溶媒で抽出又は溶解することにより、粗生成物の再結晶のみでは分離困難な原料の APM を分離除去することができ、更に副生物の N, N - ジ (3, 3 - ジメチルブチル) - APM を、晶析工程、クロマトグラフィー、抽出工程、活性炭処理工程等の分離精製手段により分離除去することができ、その結果高甘味度甘味料 N - [N - (3, 3 - ジメチルブチル) - L -  $\alpha$  - アスパルチル] - L - フェニルアラニンメチルエステルを効果的に精製し、また高純度の当該 APM 誘導体を工業的に製造することを可能にする。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

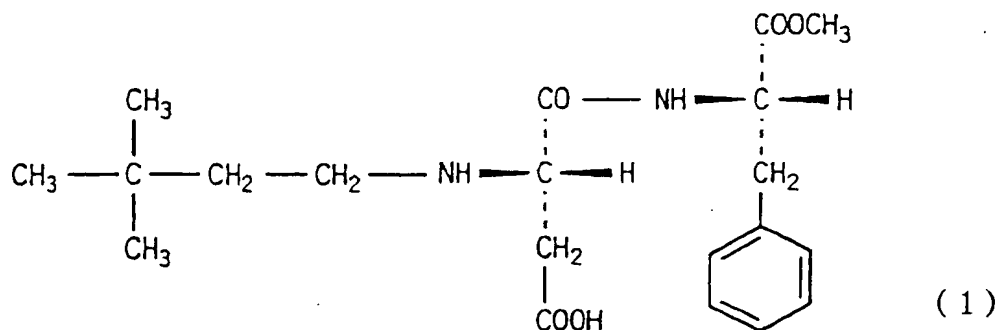
AE	アラブ首長国連邦	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		

## 明 細 書

### アスパルテーム誘導体の精製方法

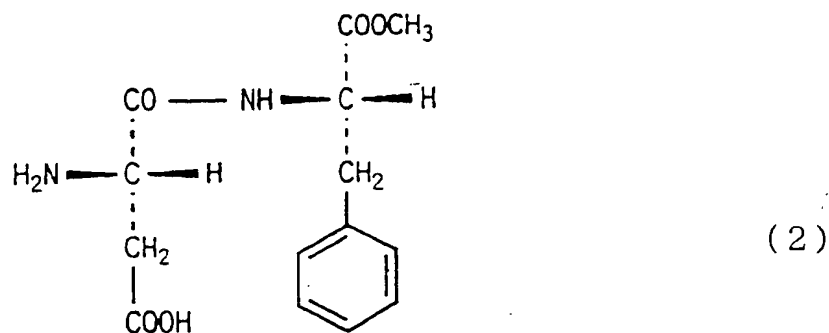
#### 技術分野

本発明は、下記式（１）で示される甘味物質N－[N－（３，３－ジメチルブチル）－L－ $\alpha$ －アスパルチル]－L－フェニルアラニンメチルエステル（「N－（３，３－ジメチルブチル）－APM」又は「APM誘導体」と略称することがある。）の精製方法及び高純度APM誘導体の製造方法に関する。

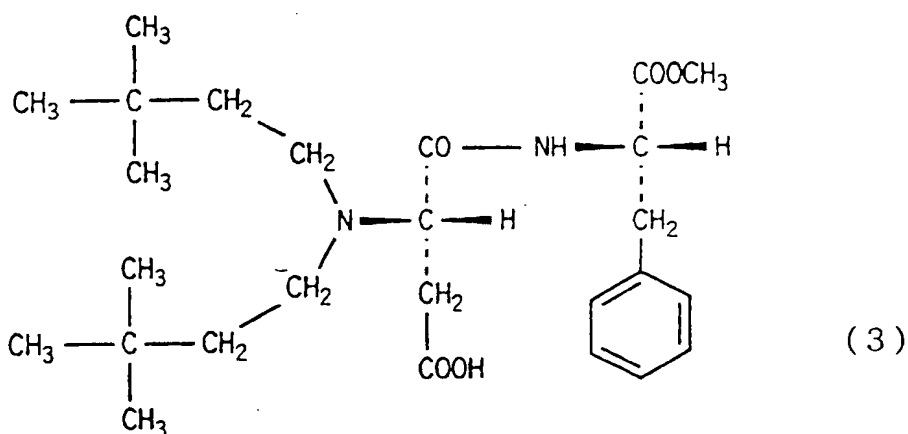


#### 背景技術

近年、食生活の高度化に伴い特に糖分の摂取過多による肥満及びこれに伴う各種の疾病が問題となっており、砂糖に替わる低カロリー甘味剤の開発が望まれている。現在、広汎に使用されている甘味剤として、安全性と甘味の質の面で優れているアスパルテーム（APM、下記式（２）で示される。）があるが安定性に問題があった。



そこで、安定性を若干改善し甘味強度を向上させる試みの一つとして、APMのアスパラギン酸のアミノ基にアルキル基を導入した化合物が検討され、その中で、前記式(1)で示されるN-(3,3-ジメチルブチル)-APMの甘味倍率が著しく高いことがフランス特許2697844明細書に記載されている。N-(3,3-ジメチルブチル)-APMの製造方法としては、メタノール中でAPMを3,3-ジメチルブチルアルデヒドの共存下にナトリウムシアノボロヒドリドで還元的にアルキル化する方法(FR2697844明細書参照。)や、pH4.5~5の水-メタノール混合溶媒中でAPMを3,3-ジメチルブチルアルデヒドの共存下にプラチナカーボンを触媒として還元的にアルキル化する方法(WO95/30689明細書参照。)が公知であるが、これら特許明細書記載の方法に従って反応を行った場合、反応混合液中或いは生成物粗結晶中には未反応の3,3-ジメチルブチルアルデヒドやAPM、或いはアルキル基が2つ導入され、下記式(3)で示されるN,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMが少なからざる量混在する。



これらのうち、3,3-ジメチルブチルアルデヒドは低沸点の為、或いはヘキサン等の貧溶媒に可溶な為減圧乾燥や洗浄によって比較的容易に除去されるが、APMやN,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMは前述の特許明細書に記載されているように触媒等を除いた残渣を1、2回再結晶するだけでは除去することが難しく、満足できる純度のN-(3,3-ジメチルブチル)-APMを得ることはできない。特にAPMが残存した場合、晶析によってこれと分離する

ことは困難である。また、3, 3-ジメチルブチルアルデヒドはその臭気に問題がある為、反応に用いる場合、APMを過剰にし、アルデヒドをできるだけ消費してしまうことが望ましいが、その場合、APMが反応液中に残存することになる為、これを効率的に除去する方法の確立が重要である。

#### 発明の課題

本発明の課題は、アスパルテーム (APM) と 3, 3-ジメチルブチルアルデヒドとの還元的アルキル化反応によって N-(3, 3-ジメチルブチル)-APM を製造する際に、反応混合液中或いは生成物粗結晶中に残存する APM 或いは副生する N, N-ジ (3, 3-ジメチルブチル)-APM を効率的に分離又は除去することである。

#### 発明の開示

本発明者等は上記課題を解決する為に鋭意検討した結果、APM、N-(3, 3-ジメチルブチル)-APM の各種溶媒に対する溶解度の差、及び N-(3, 3-ジメチルブチル)-APM と N, N-ジ (3, 3-ジメチルブチル)-APM の結晶化溶媒による結晶性の違い、或いはクロマトグラフィーの担体に対するアフィニティーの差を利用することにより容易に N-(3, 3-ジメチルブチル)-APM を精製できることを見出し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明は APM と 3, 3-ジメチルブチルアルデヒドとの還元的アルキル化反応により前記式 (1) で示される APM 誘導体、即ち N-[N-(3, 3-ジメチルブチル)-L- $\alpha$ -アスパルチル]-L-フェニルアラニンメチルエステルを生成後、反応液から当該 APM 誘導体を分離精製するに際し、反応液の濃縮液又は生成物粗結晶から APM 誘導体を有機溶媒での抽出又は洗浄により溶解し、反応停止時に反応混合物中に残存する APM を分離除去し、有機溶媒中に含まれる不純物で、前記式 (3) で示される N, N-ジ (3, 3-ジメチルブチル)-APM を下記 A~D 工程の少なくとも一つの方法により分離除去する APM 誘導体の精製方法である、

A 工程：晶析で N, N-ジ (3, 3-ジメチルブチル)-APM を母液中に淘汰 (分離) 除去する工程；

B 工程：クロマトグラフィーで N-ジ (3, 3-ジメチルブチル)-APM を分

離除去する工程；

C工程：抽出操作でN，N-ジ（3，3-ジメチルブチル）-APMを分離除去する工程；及び

D工程：活性炭処理でN，N-ジ（3，3-ジメチルブチル）-APMを活性炭に吸着分離除去する工程。

本発明には、更に下記の内容も含まれる。

1．反応液の濃縮液からの抽出又は生成物粗結晶の洗浄しAPM誘導体の溶解に用いる有機溶媒が、酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、ジメトキシエタン、エチルエーテル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン及びメチルエチルケトンの中から選ばれる1種の溶媒又は2種以上の混合溶媒である前記の方法。

2．当該APM誘導体の晶析に用いられる溶媒が、酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、ジメトキシエタン、エチルエーテル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン及びメチルエチルケトンの中から選ばれる1種の溶媒若しくは2種以上の混合溶媒、又はテトラヒドロフラン、アセトニトリル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、アセトン及びメチルエチルケトンの中から選ばれる少なくとも1種と水との混合溶媒である前記の方法。

3．クロマトグラフィーがシリカゲルを担体とするカラムクロマトグラフィー及び活性炭を担体とするカラムクロマトグラフィーの少なくとも1種である前記の方法。

4．N-[N-(3，3-ジメチルブチル)-L- $\alpha$ -アスパルチル]-L-フェニルアラニンメチルエステルとN，N-ジ（3，3-ジメチルブチル）-APMとを含有する混合物から当該両化合物を相互に分離して上記2種化合物のうち少なくとも前者を製造するに際して、当該混合物を下記A～D工程の少なくとも一つの方法に付してAPM誘導体を製造する方法、

A工程：晶析でN，N-ジ（3，3-ジメチルブチル）-APMを母液中に淘汰



分離する工程；

B工程：クロマトグラフィーでN-ジ（3，3-ジメチルブチル）-APMを分離する工程；

C工程：抽出操作でN，N-ジ（3，3-ジメチルブチル）-APMを分離する工程；及び

D工程：活性炭処理でN，N-ジ（3，3-ジメチルブチル）-APMを活性炭に吸着分離する工程。

この方法の出発物質としては、上記2種化合物のみの混合物以外に、例えば前記還元的アルキル化反応混合物や、それより原料のAPMを分離した後の粗精製物等が含まれ、少なくとも上記2種の化合物を含む混合物から上記2種の化合物の一方を精製された状態で分離、製造する過程で実施される上記A～B工程の何れかによる分離方法は本発明の製造方法に含まれる。

5. 前記本発明方法の何れかの方法により製造されたAPM誘導体。

6. 前記APM誘導体、必要によりこれと甘味料用担体を含有する甘味料又はこれを食品等甘味を要求されるものに使用する甘味付与方法。

### 実施の形態

APM或いは、例えば、N-ベンジルオキシカルボニル- $\beta$ -O-ベンジル- $\alpha$ -L-アスパルチル-L-フェニルアラニンメチルエステル、 $\beta$ -O-ベンジル- $\alpha$ -L-アスパルチル-L-フェニルアラニンメチルエステル等、容易に除去され得る保護基を有するAPMの誘導体を還元的にアルキル化してN-（3，3-ジメチルブチル）-APMを製造する際に、反応混合液中或いは粗結晶中に残存するAPMは多くの有機溶媒に殆ど溶解難いので、反応液を濃縮したもの或いは生成物粗結晶をN-（3，3-ジメチルブチル）-APMが溶解可能な有機溶媒で抽出或いは洗浄すればAPMを殆ど含まないN-（3，3-ジメチルブチル）-APMの溶液を得ることができる。

反応混合液を濃縮したときに結晶が析出した場合には、析出した結晶を含む濃縮液について有機溶媒で抽出操作を行っても良いし、粗結晶を分離した後の濃縮液について抽出操作を行い、一方分離された粗結晶については別途有機溶媒による溶解、洗浄を行っても良い。抽出或いは粗結晶を溶解洗浄する際に用いる有機

溶媒としては、酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、ジメトキシエタン、エチルエーテル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン及びメチルエチルケトンの中から選ばれる1種の溶媒又は2種以上の混合溶媒を用いることができるが、APMをできるだけ除く為には、酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、ジメトキシエタン、ジクロロメタン、クロロホルム等あまり水と混ざり合わない有機溶媒を用いることが望ましい。更に完全にAPMを除く為には、これらの有機溶媒で抽出した有機層を中性、弱酸性或いは弱アルカリ性の水で洗浄することが効果的である。

このようにして得た有機層は無水硫酸マグネシウム等の乾燥剤を用いて乾燥或いは供沸脱水によって水分をできる限り除去した後に濃縮し、残渣から酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、ジメトキシエタン、エチルエーテル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン、メチルエチルケトンの中から選ばれる1種の溶媒又は2種以上の混合溶媒を用いてN-(3,3-ジメチルブチル)-APMを結晶化させると、N,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMは結晶性に乏しい粘ちような油状物の為、母液中に分離又は除去することができる。

更に別の簡便な晶析法としては、反応混合液、特にその濃縮液からの抽出或いは粗結晶の洗浄によって得た有機層の有機溶媒をそのまま濃縮して除き、溶媒をテトラヒドロフラン、アセトニトリル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、アセトン、メチルエチルケトン等の水と混ざり合う溶媒又はこれらの複数の混合溶媒に置換し、更に水を加えて濃縮してN-(3,3-ジメチルブチル)-APMを結晶として析出させる方法が可能である。水-メタノールの混合溶媒から結晶化を行った場合、N,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMはこの溶媒系に対しN-(3,3-ジメチルブチル)-APMより溶解度が低いにもかかわらず、容易には結晶化しない為、メタノールの比率が十分であれば母液中に分離又は除去され得る。N-(3,3-ジメチルブチル)-APMの結晶化を促進する為には、pH値を等電点付近に調節するか或いは種

品を加えることが有効である。

N, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMを分離又は除去する方法としては、クロマトグラフィーによる分離も有効である。例えば、残渣をシリカゲルにのせ、酢酸エチル、酢酸エチル-クロロホルムの混合溶媒、酢酸エチル-メタノールの混合溶媒或いは酢酸エチル-クロロホルム-メタノールの混合溶媒で溶出すると容易にN-(3, 3-ジメチルブチル)-APMとN, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMとが分離する。

より簡便なN, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMの除去法としてはN-(3, 3-ジメチルブチル)-APMを溶解した溶液をこれと混ざり合わない溶媒で抽出、洗浄する方法も有効である。例えば、N-(3, 3-ジメチルブチル)-APMを水-メタノールの混合溶媒に溶解し、これを酢酸エチル-エチルエーテル或いは酢酸エチル-ヘキサン等の混合溶媒で抽出すると、N, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMは分離除去される。

活性炭にN, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMを吸着させて除去する方法も有効である。活性炭による処理はバッチ式で行っても良いが、カラムに充填した活性炭に残渣をのせメタノール或いはメタノール-水の混合溶媒でN-(3, 3-ジメチルブチル)-APMを溶出させても良い。

本発明方法により分離精製又は製造されたAPM誘導体を甘味料として製造、使用する場合困難はなく、甘味剤製造又は使用法として公知の方法を利用して行うことができる。

#### 好適な実施の形態

以下、実施例により本発明を更に詳細に説明する。

##### (実施例1)

FR 2 697 844 明細書記載の方法に従い、APM (アスパルテーム) 10.6 g、3, 3-ジメチルブチルアルデヒド 5 ml 及びナトリウムシアノボロヒドリド 1.6 g をメタノール中で反応し減圧濃縮した後、水を加え 1 N-HCl で中和したところ、油状物が析出した。これを酢酸エチル 100 ml で 2 回抽出し、有機層を順次水 50 ml で 2 回及び飽和食塩水 50 ml で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、硫酸マグネシウムを濾過して除いた。濾液を濃縮して残

渣を薄層クロマトグラフィー (TLC) で分析したところ、APMは含まれなかったが、N-(3,3-ジメチルブチル)-APM、N,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APM及び極性の低い構造未知の化合物が検出された。残渣を170mlのシリカゲルを充填したカラムにのせ、酢酸エチル:クロロホルム=3:1及び酢酸エチル:クロロホルム:メタノール=3:1:1の溶離液で溶出してN-(3,3-ジメチルブチル)-APMを粘ちょうな油状物として得た。これに水-メタノールの混合溶媒20mlを加えて濃縮を続けると結晶が析出し、これを濾過して集め乾燥してN-(3,3-ジメチルブチル)-APM 2.58gを得た。

(実施例2)

WO 95/30689明細書記載の方法に従い、APM 67.4g、3,3-ジメチルブチルアルデヒド 25ml及び5%パラジウム炭素 15gをメタノール-0.1M酢酸水溶液の混合溶媒中で水素気流下に3時間反応させた。触媒を濾過して除き、メタノールで十分触媒を洗い、濾液と洗浄液を合わせてから約3分の1に濃縮した後、水100mlを加えて更に濃縮したところ、結晶が析出した。結晶を濾過して集めTLCで分析するとAPMとN-(3,3-ジメチルブチル)-APMが検出されたがN,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMは殆ど検出されなかった。母液(以下、母液1)にはAPM、N-(3,3-ジメチルブチル)-APM及びN,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMが検出された。

得られた結晶に200mlの酢酸エチルと少量の水を加え30分間攪拌した後、濾過した。不溶物に更に200mlの酢酸エチルを加え30分間攪拌した後、再び濾過した。濾液を合わせ、分層した後、有機層を100mlの水で洗浄し、減圧濃縮した。ここでTLCで分析を行った結果、APMは殆ど分離除去されていた。メタノール50mlを加え減圧濃縮する操作を3回、次いで水50mlを加えて減圧濃縮する操作を3回繰り返すと一部に結晶が析出した。溶液を一夜冷蔵庫に保存した後、結晶を濾過して集め少量の水で洗い、乾燥してN-(3,3-ジメチルブチル)-APM 36.8gを得た。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析した結果、純度は99.5%であった。

### (実施例3)

前記実施例2で得られた母液1を1N-NaOHでpH5に調節し、約100mlに濃縮した。これを酢酸エチル100mlで2回抽出し、有機層を水50mlで洗った。有機層をTLCで分析したところ、APMは殆ど含まれなかった。実施例2と同様の方法で溶媒を水-メタノールに置換し濃縮を続けると油状物が析出した。これをTLCで分析したところ、N,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMであった。溶液を酢酸エチル-エチルエーテルの1:3混合溶液50mlで2回洗浄した後、更に濃縮を続けると結晶が析出した。結晶を濾過して集め乾燥してN-(3,3-ジメチルブチル)-APM4.0gを得た。結晶を分析したところ、N,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMは含まれなかった。

### (実施例4)

実施例1と同様の操作で得た母液1を実施例3と同様の操作で水-メタノール溶媒に置換し、少量の油状物が析出した時点で活性炭5gを加え、しばらく攪拌した。活性炭を濾過して除き、濾液を濃縮した。析出した結晶を濾過して集め乾燥して、N-(3,3-ジメチルブチル)-APM2.5gを得た。結晶を分析したところ、N,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMは含まれなかった。

### 発明の効果

本発明方法により、APMと3,3-ジメチルブチルアルデヒドとの還元的アルキル化反応によってN-(3,3-ジメチルブチル)-APMを製造する際に、反応混合液中或いは生成物粗結晶中に残存するAPM或いは副生するN,N-ジ(3,3-ジメチルブチル)-APMを効率的に分離し、除去することができる。

## 請求の範囲

1. APMと3, 3-ジメチルブチルアルデヒドとの還元的アルキル化反応によりN-[N-(3, 3-ジメチルブチル)-L- $\alpha$ -アスパルチル]-L-フェニルアラニンメチルエステルを生成後、反応液から当該APM誘導体を分離精製するに際し、反応液の濃縮液又は生成物粗結晶から当該APM誘導体を有機溶媒での抽出又は洗浄により溶解し、反応停止時に反応混合物中に残存するAPMを分離除去し、有機溶媒中に含まれるN, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMを下記A～D工程の少なくとも一つの方法により分離除去することを特徴とするAPM誘導体の精製方法、

A工程：晶析でN, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMを母液中に分離除去する工程；

B工程：クロマトグラフィーでN-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMを分離除去する工程；

C工程：抽出操作でN, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMを分離除去する工程；及び

D工程：活性炭処理でN, N-ジ(3, 3-ジメチルブチル)-APMを活性炭に吸着分離除去する工程。

2. 反応液の濃縮液からの抽出又は生成物粗結晶の洗浄によりAPM誘導体の溶解に用いる有機溶媒が、酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、ジメトキシエタン、エチルエーテル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン及びメチルエチルケトンの中から選ばれる1種の溶媒又は2種以上の混合溶媒である請求項1記載の方法。

3. 当該APM誘導体の晶析に用いられる溶媒が、酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、ジメトキシエタン、エチルエーテル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコー

ル、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン及びメチルエチルケトンの中から選ばれる1種の溶媒若しくは2種以上の混合溶媒、又はテトラヒドロフラン、アセトニトリル、イソプロピルアルコール、エチルアルコール、メチルアルコール、アセトン及びメチルエチルケトンの中から選ばれる少なくとも1種と水との混合溶媒である請求項1記載の方法。

4. クロマトグラフィーがシリカゲルを担体とするカラムクロマトグラフィー及び活性炭を担体とするカラムクロマトグラフィーの少なくとも1種である請求項1記載の方法。

5.  $N-[N-(3,3\text{-ジメチルブチル})-L-\alpha\text{-アスパルチル}]-L\text{-フェニルアラニンメチルエステル}$ と $N,N\text{-ジ}(3,3\text{-ジメチルブチル})-APM$ とを含有する混合物から当該両化合物を相互に分離して上記2種化合物のうち少なくとも前者を製造するに際して、当該混合物を下記A～D工程の少なくとも一つの方法に付すことを特徴とするAPM誘導体の製造方法、

A工程：晶析で $N,N\text{-ジ}(3,3\text{-ジメチルブチル})-APM$ を母液中に淘汰分離する工程；

B工程：クロマトグラフィーで $N\text{-ジ}(3,3\text{-ジメチルブチル})-APM$ を分離する工程；

C工程：抽出操作で $N,N\text{-ジ}(3,3\text{-ジメチルブチル})-APM$ を分離する工程；及び

D工程：活性炭処理で $N,N\text{-ジ}(3,3\text{-ジメチルブチル})-APM$ を活性炭に吸着分離する工程。

6. 請求項1～5の何れか記載の方法により得られたことを特徴とするAPM誘導体。

7. 請求項6記載のAPM誘導体及び甘味料用の担体を含有することを特徴とする甘味料。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP98/04783

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>6</sup> C07K5/075, 1/14, 1/16, A23L1/236				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>6</sup> C07K5/075, 1/14, 1/16, A23L1/236				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA (STN), REGISTRY (STN), BIOSIS (DIALOG)				
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X A	JP, 8-503206, A (Nofre Claude), 9 April, 1996 (09. 04. 96), Refer to Claims ; Examples & WO, 94/11391, A1 & FR, 2697844, A1 & EP, 669935, A1 & US, 5480668, A	6-7 1-5		
P, X P, A	US, 5728862, A (The NutraSweet Company), 17 May, 1998 (17. 05. 98), Refer to Claims ; Examples & WO, 98/32767, A1 & AU, 9861375, A	6-7 1-5		
P, X	JP, 10-248520, A (Ajinomoto Co., Inc.), 22 September, 1998 (22. 09. 98), Refer to Claims ; Examples & WO, 98/39979, A1 & JP, 10-248521, A	6-7		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;">           * Special categories of cited documents:            "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance            "E" earlier document but published on or after the international filing date            "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)            "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means            "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed         </td> <td style="vertical-align: top;">           "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention            "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone            "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art            "&amp;" document member of the same patent family         </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 14 January, 1999 (14. 01. 99)		Date of mailing of the international search report 26 January, 1999 (26. 01. 99)		
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer		



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>6</sup> C07K5/075, 1/14, 1/16, A23L1/236

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>6</sup> C07K5/075, 1/14, 1/16, A23L1/236

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), BIOSIS (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP, 8-503206, A, (フレ・クワート), 9. 4月. 1996 (09. 04. 96), 特許請求の範囲及び実施例参照, & WO, 94/11391, A1 & FR, 2697844, A1 & EP, 669935, A1 & US, 5480668, A	6-7 1-5
P, X P, A	US, 5728862, A, (The NutraSweet Company), 17. 5月. 1998 (17. 05. 98), 特許請求の範囲及び実施例参照, & WO, 98/32767, A1 & AU, 9861375, A	6-7 1-5
P, X	JP, 10-248520, A, (味の素株式会社), 22. 9月. 1998 (22. 09. 98), 特許請求の範囲及び実施例参照, & WO, 98/39979, A1 & JP, 10-248521, A	6-7

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14. 01. 99

国際調査報告の発送日

26.01.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂崎 恵美子 印

4H 9451

電話番号 03-3581-1101 内線 3445

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**